植 物 分 类 与 资 源 学 报 2014，**36**（3）：358～364
Plant Diversity and Resources DOI：10.7677/ynzwyj201413165

毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因克隆及表达分析*

刘 博，沙 伟**，张梅娟，宋 璐，安洪雪
（齐齐哈尔大学生命科学与农林学院，黑龙江 齐齐哈尔 161006）

摘要：从毛尖紫萼藓干旱 cDNA 文库中筛选了一条与抗旱相关的泛素羧基末端水解酶基因的 EST 序列，采用 RACE 技术从毛尖紫萼藓中克隆出了该基因的 cDNA 全长序列，命名为 *GpUCH*。对该基因的序列特征、进化关系和表达谱进行了分析，为全面研究其功能奠定了基础。该基因 cDNA 全长 951 bp，开放阅读框 711 bp，共编码 236 个氨基酸。生物信息学分析显示，*GpUCH* 基因相对分子质量为 25.7 kD，等电点为 4.67，为不稳定蛋白，属于跨膜蛋白但不存在信号肽。系统进化树分析表明，*GpUCH* 与小立碗藓 UCH 蛋白一致性较高。实时荧光定量 PCR 结果显示，*GpUCH* 基因在复水和干旱的条件下均能表达，但是在不同的条件下表达情况差异显著。表明该基因可能在毛尖紫萼藓干旱过程中发挥一定的作用。

关键词：毛尖紫萼藓；*GpUCH* 基因；克隆；序列分析；基因表达
中图分类号：Q 78 **文献标识码**：A **文章编号**：2095-0845(2014)03-358-07

Cloning and Expression Analysis of *GpUCH* Gene in *Grimmia pilifera*

LIU Bo，SHA Wei**，ZHANG Mei-Juan，SONG Lu，AN Hong-Xue
（*College of Lief Sciences and Agroforestry*，*Qiqihar University*，Qiqihar 161006，China）

Abstract：A drought-resistance gene was cloned from drought cDNA library of *Grimmia pilifera*，the gene relatived to ubiquitin carboxy terminal hydrolytic enzymes（UCH），named *GpUCH*. The cDNA fragment of *GpUCH* was cloned from *Grimmia pilifera* through rapid amplification of cDNA ends（RACE）. To further study the function of *GpUCH* gene，it was necessary to describe the sequence characteristics，evolutionary relationship and gene expression. The full length cDNA was 951 bp with an pen reading frame of 711 bp which encoded 237 amino acid with a molecular weight of 25.7 kD，and the isoelectric point is 4.67. The result of bioinformatics showed that this protein was unstable transmembrane protein and had no signal peptide. The phylogenetic tree showed that *GpUCH* and *Physcomitrella patens* UCH protein had a close relationship. QRT-PCR analysis showed that the expression of *GpUCH* gene was induced in both rehydration and dehydration. Under different conditions the expression of *GpUCH* were obviously varius. The results suggested that *GpUCH* gene might play an important role in drought stress.

Key words：*Grimmia pilifera*；*GpUCH* gene；Clone；Sequence analysis；Gene expression

泛素（Ubiquitin，Ub）是 Goldstein（1975）首次发现的广泛存在于真核细胞内并由 76 个氨基酸组成的高度保守的多肽。由于它存在的普遍性，因此又被称为遍在蛋白。泛素系统的主要功能是选择性的降解蛋白质，而蛋白降解的一个重要的、基本的功能是维持细胞内环境稳定。

机体内有许多重要的生命过程均由靶蛋白的泛素化来控制（Hershko 等，1998；Pickart 和 Ed-

* 基金项目：国家自然科学项目支持项目（31070180，31270254）
** 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：shw1129@263.net
收稿日期：2013-08-24，2013-12-21 接受发表
作者简介：刘 博（1989-）女，在读硕士，主要从事苔藓植物分子生物学研究。E-mail：liubo6425@126.com

dins，2004），但同时也有许多酶进行着相反作用，它们将泛素从标记的底物上水解下来并回收泛素，行使着泛素化逆向调节的作用，这些酶称去泛素化酶（DUBs）（黄浩，2009）。目前已知的去泛素化酶包括 5 个家族：4 个半胱氨酸蛋白酶家族和一个金属蛋白酶家族，分别是 USP 家族、UCH 家族、OUT/Cezanne 家族、Ataxin3/Josephin 家族和 EMN +/JAMM 家族（Amerik 和 Hochstrasser，2004）。UCH 家族多为含巯基蛋白酶，由 UCH-L1，UCH-L2，UCH-L3，UCH-L4，UCH-L5 5 个家族成员组成（Wilkinson 等，1989；Mayer 和 Wilkinson，1989；Osawa 等，2001）。它们分子量大小不等，能特异性识别泛素羧基末端区域，促进泛素再循环，在许多生化过程中起到重要的作用，如 DNA 损伤修复（Ulirch，2002）、重要蛋白质翻译后修饰和改造（Azzo 等，2005）、细胞周期调控、激酶信号通路（Glickman 和 Ciechanover，2002）等，主要参与泛素羧基末端所连接的小肽或酯类分子的降解途径，所以对泛素系统的正常运行很重要（Chung 和 Back，1999）。

毛尖紫萼藓（*Grimmia pilifera*）为紫萼藓科（Grimmiaceae）紫萼藓属（*Grimmia*）植物，可以生存在其他陆生植物难以生存的极端环境中，是典型的旱生藓类，同时又是很好的抗逆基因资源。为了深入了解泛素在毛尖紫萼藓植株耐旱过程中的功能，利用同源克隆技术获得了 *GpUCH* 基因的 cDNA 全长序列，采用生物信息学软件对其进行分析，并运用实时荧光定量 PCR 技术对该基因在植株干旱和复水条件下的表达情况进行初步分析，为全面研究毛尖紫萼藓的抗逆性提供了依据。

1　材料与方法

1.1　材料

毛尖紫萼藓采自黑龙江省五大连池市，选择野外生长茁壮的植株置封口袋中带回实验室备用，将植物进行晾干处理后分别复水处理 1 h、3 h、6 h、12 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d，选择恢复正常生长 6 d 的材料作为对照，停止浇水后用硅胶快速脱水处理，处理时间分别为 10 min、20 min、30 min 和 1 h。取材后用液氮迅速冷冻后放入-80 ℃冰箱中保存备用。

1.2　试剂和酶

反转录酶、OLigo（dT）$_{15}$、琼脂糖购自 invitrogen 公司；胶回收试剂盒购自北京三博远志生物技术有限责任公司；克隆载体 PMD18-T Simple vector、DNA Marker 购自 TaKaRa 公司；质粒小量抽提试剂盒、Taq 酶购自上海生工生物工程公司；大肠杆菌 *E. coli* DH5α 由本实验室保存；纯化酶、限制性内切酶购于 promega 公司；Sso Fast TM Evagreen® Supermix 购于伯乐公司；其他常规试剂采用进口分装或国产分析纯；引物合成由上海生工生物工程公司完成，测序由北京华大基因科技股份有限公司完成。

1.3　方法

1.3.1　*GpUCH* 基因的克隆　从毛尖紫萼藓 cDNA 文库中筛选出一条与抗旱相关的泛素羧基末端水解酶基因 EST 序列，获得的 *GpUCH* 基因长为 666 bp。经 NCBI Blast 验证有完整的 5′端，无 3′端，因此设计 3′-RACE 引物 GSP 和 NGSP（表 1），分别与通用引物 UMP 进行 2 轮 PCR，扩增获得全长序列，操作步骤按 SMART-ER™ RACE cDNA Amplification Kit（Clontech）试剂盒说明书进行。

采用改良的 SDS 法（张梅娟等，2009）提取毛尖紫萼藓的总 RNA，用琼脂糖电泳和紫外分光光度计检测其质量，利用高质量的 RNA 进行下一步实验。以 RNA 为模板，按照 Promega 公司 M-MLV 反转录酶说明书对 2 μg 总 RNA 进行逆转录，合成 cDNA 第一链。所得的特异性片段经回收、纯化后与 PMD18-T Simple Vector 连接，转化后随机挑选阳性克隆送至北京华大公司进行测序。所得序列与原序列进行拼接，获得 cDNA 全长序列。经 Primer Premier 5.0 软件设计该基因的特异性引物 *GpUCH*-A 和 *GpUCH*-B（表 1），以毛尖紫萼藓 cDNA 为模版进行 PCR 扩增。

表 1　*GpUCH* 基因克隆及表达分析所用引物

Table 1　Primers for the cloning and expression analysis of *GpUCH*

引物名称	引物序列
GSP	5′-CCCCATTACCAAAGAGTCCGAGGAGGCG-3′
NGSP	5′-ACTGTTGGGAACGCTTGTGGTACGATTGG-3′
GpUCH-A	5′-CCATCACAACCAACTCATCTC-3′
GpUCH-B	5′-GTCTCTCTCCCACGAAACAAAG-3′
GpUCH-F	5′-TCTTCTCTTCCCCATTACCAAA-3′
GpUCH-R	5′-CTTTCGCTCCTGACTCTTCAAT-3′
18s-F	5′-TTGACGGAAGGGCACCA-3′
18s-R	5′-ACCACCACCCATAGAATCAAGAA-3′

1.4　*GpUCH* 基因生物信息学分析

在 NCBI 中运用 Blast X 程序进行同源性比较；ORF Finder 程序寻找合适的开放阅读框；用 ProtParam（http：//www.expasy.ch/tools/protpa ram.html）预测此蛋白的基本理化性质；用 ProtScale（http：//web.expasy.org/

protscale/）预测该蛋白亲疏水性；用 Tmpred（http：//www.ch.embnet.org/software/TMPRED_form.html）预测该蛋白跨膜区域；用 SignalP-4.0（http：//www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/）对该蛋白的信号肽进行预测；用 SWISS-MODEL（http：//swissmodel.expasy.org/）预测蛋白质的三维结构图；用 MEGA5.0 软件进行系统进化树分析。

1.5 *GpUCH* 基因实时荧光定量 PCR 分析

分别提取毛尖紫萼藓在复水和干旱各个时期的总 RNA，并反转录合成 cDNA 第一链。根据 *GpUCH* 基因的 cDNA 全长和荧光定量引物设计的原则，设计荧光定量引物 *GpUCH*-F 和 *GpUCH*-R（表1），选择毛尖紫萼藓 18S rRNA 基因为内参基因（表 1），反应在 BIO-RAD 公司 CFX-96 实时定量 PCR 仪上进行。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算出毛尖紫萼藓在不同处理时间下的表达情况，将 CK 的表达量设为 1 个单位。20 μL 反应体系中加入：2 × Evagreen® Supermix 10 μL，去离子水 5 μL，上游引物和下游引物各 0.5 μL，cDNA 模板 1 ng，同时设置阴性对照，*GpUCH* 基因、18s rRNA 基因、阴性对照均设 3 次重复。反应程序：95 ℃预变性 10 s，95 ℃变性 30 s，58 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共 40 个循环，在 65 ℃ ~ 95 ℃绘制熔解曲线，并在 72 ℃时搜集荧光信号。

2 结果与分析

2.1 *GpUCH* 基因克隆载体的构建

以 *GpUCH* 基因的 EST 序列为基础进行 3′-RACE 扩增，获得一条大约 666 bp 的片段，经验证获得了完整的 3′端，结果如图 1。将原序列与该序列进行拼接，获得 1 条 951 bp 的全长 cDNA 序列，该序列的开放阅读框 711 bp，5′-UTR 为 109 bp 和 3′-UTR 为 131 bp。根据此序列的开放阅读框设计特异性引物，扩增得到大小约 871 bp 的片段，与预期结果一致（图 2）。将目的片段进行回收、纯化后进行测序，测序结果与拼接结果相同，说明拼接正确。

2.2 毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因生物信息学分析

2.2.1 *GpUCH* 基因序列分析　该基因序列全长 951 bp，开放阅读框为 711 bp 共编码 236 个氨基酸（图 3）。用 ProtParam 软件预测毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因的相对分子质量为 25.7 kD，理论等电点为 4.67，为酸性蛋白。其中负电荷残基（Asp+Glu）总数为 36，正电荷残基（Arg+Lys）总数为 20。不稳定系数为 47.09，为不稳定性蛋白（<40 为稳定性蛋白）。脂肪系数为 89.24，总平均亲水数为-0.109。用 ProtScale 软件对该基因亲疏水性分析得知，最低得分（MIN）：-2.333，最高得分（MAX）：2.989，由于具有较高正值的氨基酸有较高的疏水性，说明该蛋白疏水性较强。用 Tmpred 软件对该基因编码的氨基酸序列跨膜区域预测，得分大于 500 分的才被认为是有意义的跨膜螺旋。该预测得到分值为 2 586 分和 1 494 分的强跨膜区域，分别有从外向内跨膜的区域为 44 ~ 60 bp、167 ~ 188 bp 和 97 ~ 116 bp，从内向外跨膜区域为 97 ~ 115 bp 和 44 ~ 61 bp，表明该蛋白为跨膜蛋白。SignalP-4.0 软件预测信号肽，该蛋白不存在信号肽，为非分泌型蛋白。用 SWISS-MODEL 预测 *GpUCH* 蛋白的三维结构，该蛋白由大量的 α 螺旋、β 折叠和无规则卷曲组成，其中 α 螺旋占 18.2%，β 折叠占 22%，无规则卷曲占 59.7%（图 4）。

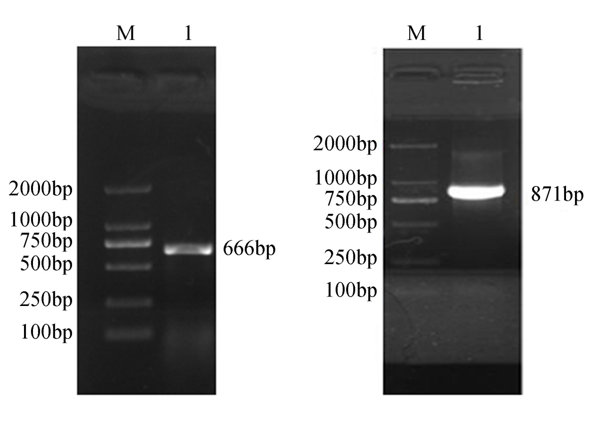


图 1　毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因 3′-RACE 产物琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1　Agarose electrophoresis results of *GpUCH* gene 3′-RACE product of *Grimmia pilifera*

图 2　毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因 CDS 产物琼脂糖凝胶电泳

Fig. 2　Agarose electrophoresis results of *GpUCH* gene CDS product of *Grimmia pilifera*

2.2.2 *GpUCH* 基因的序列比对及系统进化树分析　为了研究 *GpUCH* 的进化关系，利用 DNA-MAN6.0 软件进行多重序列比对（图 5）。结果发现，该序列与小立碗藓（*Physcomitrella patens*）、江南卷柏（*Selaginella moellendorffii*）、大豆（*Glycine max*）、黄瓜（*Cucumis sativus*）、蓖麻（*Ricinus communis*）、番茄（*Solanum lycopersium*）、拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）等物种的一致性较高，均在 55% 以上。其中，与小立碗藓的一致性最高，高达 81%。利用 ClustalX2.0

```
1      GGGGACTTCCAACAACCATCACTGCTCTGCTTCCACTCTTCCATCACAACCAACTCATCT
61     CCCATCGCAAATTTCCATCACTCATTCGCTTCTCAACAAAGCTCTCACCATGGGCGACGT
1                                                         M  G  D  V
121    CGCCAAGAAGCGCTGGCTGCCTCTAGAGGCCAACCCTGATGTCATGAACCAGTTCTTGCA
5       A  K  K  R  W  L  P  L  E  A  N  P  D  V  M  N  Q  F  L  H
181    TCGGCTGGGGTTTCCAACTGATGCAGGATGTTACGATGTGTTCGGATTCGACGACGACCT
25      R  L  G  F  P  T  D  A  G  C  Y  D  V  F  G  F  D  D  D  L
241    CCTGGCCATGGTTCCATCCCCTATTCTCGCGGTGCTTCTTCTCTTCCCCATTACCAAAGA
45      L  A  M  V  P  S  P  I  L  A  V  L  L  L  F  P  I  T  K  E
301    GTCCGAGGAGGCGAGCTTGGCAGAGCAGGCTAAGATTGAAGAGTCAGGAGCGAAAGTGAG
65      S  E  E  A  S  L  A  E  Q  A  K  I  E  E  S  G  A  K  V  S
361    TGAGAAGGTTTATTTTATGAAACAAACTGTTGGGAACGCTTGTGGTACGATTGGCCTGCT
85      E  K  V  Y  F  M  K  Q  T  V  G  N  A  C  G  T  I  G  L  L
421    TCACGCTGTCGGCAATCTGGCCTGCAATTCTCTTGTTGACCTTGAAGAAGGCTCCTATCT
105     H  A  V  G  N  L  A  C  N  S  L  V  D  L  E  E  G  S  Y  L
481    GCAGCGCTTTGTCAAGCGAACTTCTATTATGTCTCCTGATGAGAAAGCGCACTTTCTTGA
125     Q  R  F  V  K  R  T  S  I  M  S  P  D  E  K  A  H  F  L  E
541    GACAGACACCGAGTTGGAAGATGCACATTCATTGGCTGCGAGTGGTGGCGATACCACGCC
145     T  D  T  E  L  E  D  A  H  S  L  A  A  S  G  G  D  T  T  P
601    TCCAGATATTTCGAGCTCCGTGGACCTTCATTTTATTTGCTTTGTGTGTGTTGATGGAGG
165     P  D  I  S  S  S  V  D  L  H  F  I  C  F  V  C  V  D  G  G
661    GTTATATGAGCTCGACGGGAGGAAGAAGCAGCCCATTTATCATGGACCTTCCTCACAGGA
185     L  Y  E  L  D  G  R  K  K  Q  P  I  Y  H  G  P  S  S  Q  E
721    GACACTGCTCAAGGATTCCGTGAAGGTGGTCCAGGAATTCATTTCTCGCAATCCAGAGTC
205     T  L  L  K  D  S  V  K  V  V  Q  E  F  I  S  R  N  P  E  S
781    GGTGAATTTCAATGCCATAGCCGTTGCCAAGGATAGCTGATCCGTTTTACAACGTCGAAA
225     V  N  F  N  A  I  A  V  A  K  D  S  *
841    TCAGTGTGCACTTTGAACTCATTAGATAATCAGTCCCCATGGTGCTTTTGTCTCTCTCCC
901    ACGAAACAAAGACGCTGCTATGTTTTGTCGCCAAAAAAAAAAAAAAAAAA
```

图 3　*GpUCH* 基因全长及其翻译的氨基酸序列，ATG 为起始密码子，TGA 为终止密码子

Fig. 3　Nucleotide and deduced amino acid sequences of *GpUCH*, the start codon is ATG, the stop codon is TGA



图 4　毛尖紫萼藓 *GpUCH* 蛋白三维结构

Fig. 4　The predicted 3D structure of *GpUCH* in *Grimmia pilifera*

和 MEGA5.0 软件（Demeker 等，2001）构建系统发育树（图 6）。由进化树可知，以上植物聚成了两大支，一支为被子植物，另一支为蕨类植物与苔藓植物。其中，毛尖紫萼藓与苔藓植物中的小立碗藓处在同一个分支上，亲缘关系最近，与被子植物蓖麻亲缘关系最远。

2.3　*GpUCH* 基因荧光定量表达分析

以 *GpUCH*-F/*GpUCH*-R 为引物，以不同复水和干旱处理下的毛尖紫萼藓茎尖的 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR 扩增，结果表明 *GpUCH* 基因在不同的处理条件下都有所表达（图 7），复水 1 h 时表达量较高，是对照表达量的 10.6 倍，随着复水时间的延长，处理 3 h、6 h、12 h、

24 h、2 d、3 d 时表达量趋于稳定，当复水 4 d 时表达量又显著上调随后又下降。说明 *GpUCH* 基因在复水时诱导表达很快的适应了复水的环境。干旱处理过程中快速脱水 10 min，20 min 时表达量不明显，当脱水时间延长 30 min 时表达量迅速升高，是对照表达量的 12.9 倍。说明随着干旱程度的加深，*GpUCH* 基因可能发挥作用，通过对异常蛋白的降解来减缓干旱对植物造成的伤害。

3 讨论与结论

由于泛素存在的普遍性，有关泛素的生物学功能研究越来越引起人们的重视。机体内泛素化过程由多种去泛素化酶介导催化，参与信号转导、促进底物蛋白的降解和调节泛素化底物的稳定性等（Huang 等，1995；D′Andrea 和 Pellman，1998；Chung 和 Baek，1999）。UCH 家族的研究大多集中于神经性疾病或肿瘤等许多细胞生理和病理过程，在植物中进行克隆与功能分析的报道

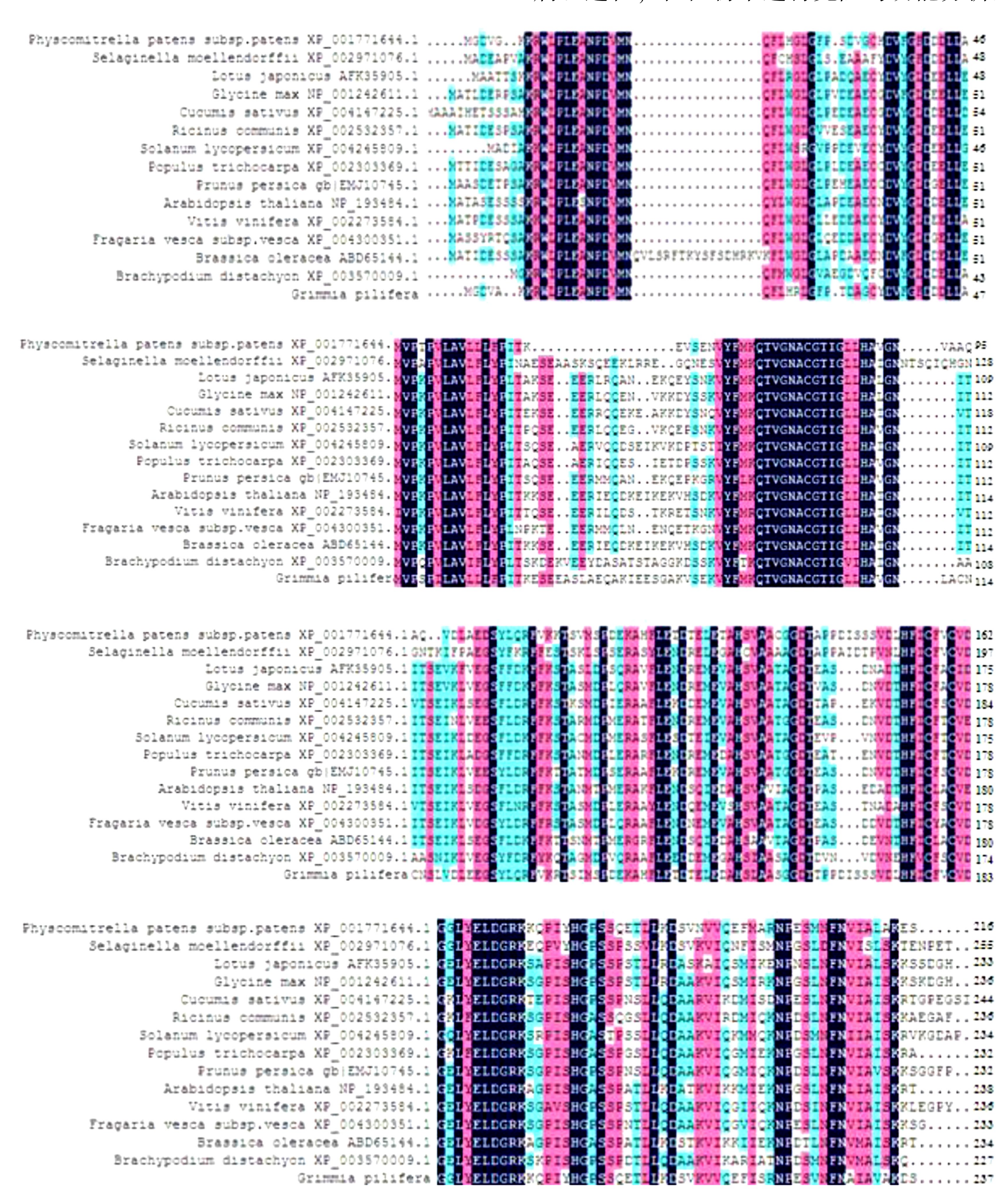


图 5 毛尖紫萼藓 *GpUCH* 与其它植物泛素羧基末端水解酶氨基酸序列比对

Fig. 5 Alignment of *GpUCH* and other plant ubiquitin carboxy terminal hydrolytic

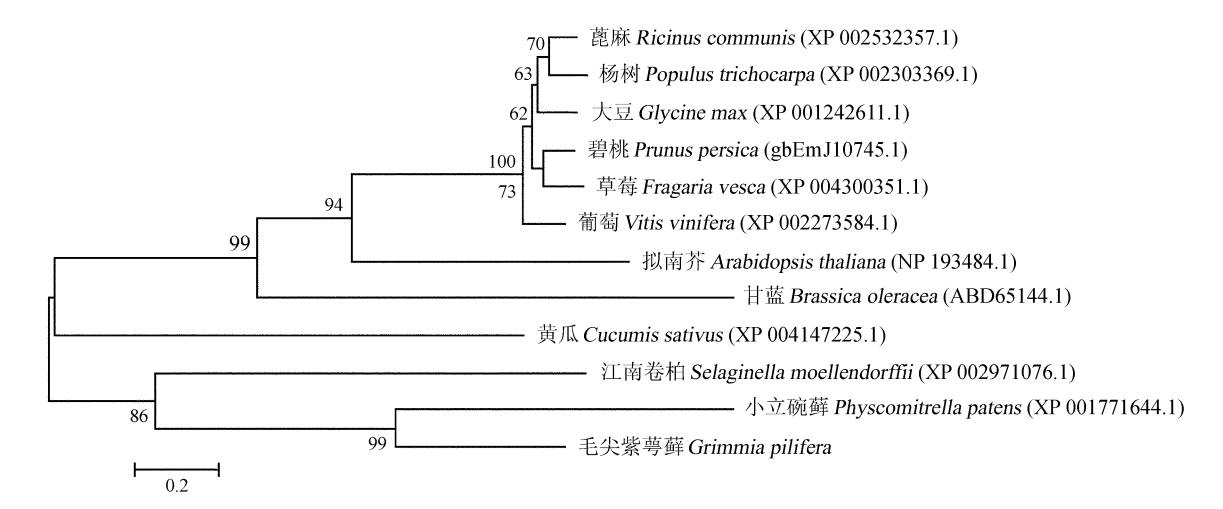


图 6　*GPUCH* 基因编码蛋白的系统进化树

Fig. 6　Phylogenetic tree analysis of proteins encoded by *GPUCH* genes

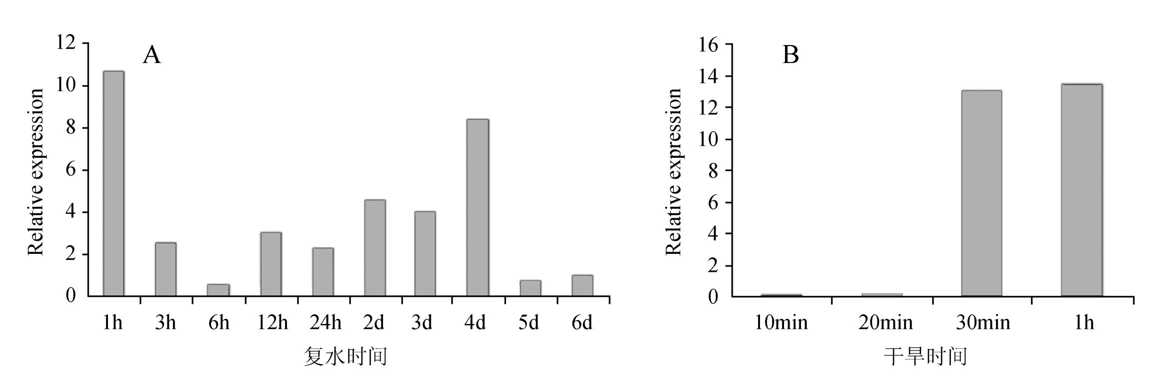


图 7　毛尖紫萼藓 *GpUCH* 基因复水（A）和干旱（B）处理时基因表达

Fig. 7　Expression analysis of *GpUCH* gene during rehydration（A）hydration（B）

较少。研究发现，去泛素化酶种类繁多，拟南芥中至少存在 64 种，可以组成不同的亚家族，其中 UCH1 和 UCH2 与拟南芥芽的萌发有关（Yang 等，2007；杜国华等，2010）。秘彩莉等（2010）对小麦 *TaUCH1* 和 *TaUCH2* 基因进行了克隆、特性分析和 Southern 杂交，分析结果认为小麦中的 *UCH* 基因可能参与了植物胁迫反应中某些受损伤蛋白或重要调控蛋白的降解。

本研究以毛尖紫萼藓为材料，通过 RACE 技术获得了一条泛素羧基末端水解酶基因，命名为 *GpUCH*。对该基因进行了生物信息学分析，开放阅读框 711 bp，共编码 236 个氨基酸，分子量为 25. 7 kD。跨膜结构分析表明 *GpUCH* 编码的蛋白具有明显的跨膜区，属于跨膜蛋白。信号肽预测结果表明该蛋白无信号肽。通过进化树分析发现毛尖紫萼藓与小立碗藓、江南卷柏的亲缘关系较近，而与蓖麻、杨树、大豆等的亲缘关系相对较远。为了进一步了解 *GpUCH* 基因在不用干旱胁迫条件下的表达情况，利用荧光定量 PCR 方法对该基因进行表达分析。Oliver 等在耐旱藓类山墙藓中研究发现，复水最初 2 h 内，80%的蛋白质合成速率没有明显变化，但有些蛋白质的合成受到明显的影响，当复水 24 h 后所有蛋白质均达到正常水平（Oliver，1991；Oliver 等，2000；宋晓宏等，2012）。Scott 和 Oliver 等的研究表明从山墙藓中配子体中分离得到 18 种 cDNAs，在复水化时大量表达，并且蛋白质合成模式与无胁迫压力下的合成模式存在很大程度的不同（Scott 和 Oliver，1994；Oliver 和 Bewley，1984；宋晓宏等，2012）。本研究中 *GpUCH* 基因在不同的处理条件下都有表达且表达量较高，说明毛尖紫萼藓与山墙藓有类似的特点，在干旱和复水条件下都能表达。

目前，尽管已经发现UCH家族与细胞的许多生命过程相关，但是许多机制还不太清楚，而在植物中的研究大多集中于拟南芥，所以对*GpUCH*进行克隆有重要的意义。该研究结果可为后续研究奠定基础，并最终为毛尖紫萼藓抗旱分子机理提供科学依据。

〔参 考 文 献〕

Amerik AY, Hochstrasser M, 2004. Mechanism and function of deubiquitinating enzymes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics*, **1695** (1-3): 189—207

Azzo A, Bongiovanni A, Nastasi T, 2005. E3 ubiquitin ligases as regulators of membrane protein trafficking and degradation [J]. *Trafifc*, **6** (6): 429—441

Chung CH, Baek SH, 1999. Deubiquitinating enzymes: their diversity and emerging roles [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **266** (3): 633—640

D′Andrea A, Pellman D, 1998. Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **33** (5): 337—352

Demeker T, Morris CF, Campbell KG *et al.*, 2001. Wheat polyphenol oxidase: distribution and genetic mapping in three inbred line populations [J]. *Crop Science*, **41**: 1750—1757

Du GH (杜国华), Zhang LJ (张立军), Fan JJ (樊金娟) *et al.*, 2010. Protein specific degradation systems in higher plants [J]. *Molecular Plant Breeding* (分子植物育种), **8** (3): 567—576

Glickman MH, Ciechanover A, 2002. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction [J]. *Physiological Reviews*, **82** (2): 373—428

Goldsten G, Scheid M, Hmmerling U *et al.*, 1975. Ioslation of a porlypeptide that has lymphocyte-differentiating properties and is Probably represented universally in living cells [J]. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America*, **72** (1): 11—15

Hershko A, Ciechanover A, Varshavsky A, 1998. The ubiquitin system [J]. *Annual Review of Biochemistry*, **67** (1): 425—479

Huang H (黄浩), 2009. Study on the activity and kinetics of ubiquitin C-terminal hydrolase (MS thesis) [D]. Suzhou: Suzhou University

Huang Y, Baker RT, Fischer-vize JA, 1995. Control of cell fate by a deubiquitinating enzyme encoded by the facets gene [J]. *Science*, **270** (5243): 1828—1831

Mayer AN, Wilkinson KD, 1989. Detection, resolution, and nomenclature of multiple ubiquitin carboxyl-terminal esterases from bovine calf thymus [J]. *Biochemistry*, **28** (1): 166—172

Mi CL (秘彩莉), Guo GY (郭光艳), Zhang X (张晓) *et al.*, 2010. Cloning and characterization of TaUCHs in wheet [J]. *Journal of Triticeae Crops* (麦类作物学报), **30** (6): 1001—1005

Oliver MJ, Bewley JD, 1984. Plant desiccation and protein synthesis: changes in protein synthesis elicited by desiccation of the moss Tortula ruralis are effected at the translational level [J]. *Plant Physiology*, **74** (4): 923—927

Oliver MJ, 1991. Influence of protoplasmic water loss on the control of protein synthesis in the desiccation tolerant moss *Tortula ruralis*: ramifications for arepair-based mechanism of desiccation-tolerance [J]. *Plant Physiology*, **97** (4): 1501—1511

Oliver MJ, Velten J, Wood AJ, 2000. Bryophytes as experimental models for the study of environmental stress tolerance: *Tortula ruralis* and desiccation-tolerance in mosses [J]. *Plant Ecology*, **151** (1): 73—84

Osawa Y, Wang YL, Osaka H *et al.*, 2001. Cloning, expression, and mapping of a mouse gene, Uchl4, highly homologous to human and mouse Uchl3 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **283** (3): 627—633

Pickart CM, Eddins MJ, 2004. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1695** (1-3): 55—72

Scott HB, Oliver MJ, 1994. Accumulation and polysomal recruitment of transcripts in response to desiccation and rehydration of the moss *Tortula ruralis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, **45** (5): 577—583

Song XH (宋晓宏), Sha W (沙伟), Jin ZM (金忠民) *et al.*, 2012. Cloning, bioinformatics analysis and expression analysis of GpAPX during dehydration and rehydration in Grimmia pilifera [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), **35** (2): 51—58

Ulirch HD, 2002. Degradation or maintenance: actions of the ubiquitin system on eukaryotic chromation [J]. *Eukaryot Cell*, **1** (1): 1—10

Wilkinson KD, Lee KM, Deshpande S *et al.*, 1989. The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase [J]. *Science*, **246** (4930): 670—673

Yang PZ, Smalle J, Lee S *et al.*, 2007. Ubiquitin C-terminal hydrolases 1 and 2 affect shoot architecture in Arabidopsis [J]. *The Plant Journal*, **51** (3): 441—457

Zhang MJ (张梅娟), Sha W (沙伟), Du YX (都艳霞), 2009. Comparation of methods of total RNA extracted from bryophyte plant [J]. *Journal of Qiqihar University* (齐齐哈尔大学学报), **25** (1): 51—54